

PŘEHLEDY A ODBORNÁ SDĚLENÍ

Modulácia leukotriénovej cesty – potenciálne ciele**Modulation of leukotriene pathway – potential targets**

Peter Hoffman • Lýdia Bezáková

Došlo 4. apríla 2012 / Prijato 9. mája 2012

Súhrn

Leukotriény (LT), zahŕňajúce cysteinyl LT a LTB_4 , sú významné lipidové mediátory zúčastňujúce sa signalizácie v mnohých zápalových procesoch. Proces premeny kyseliny arachidónovej na leukotriény môžeme označovať ako leukotriénovú cestu. Kľúčovým enzýmom je 5-lipoxygenáza – dioxygenáza s nehémovo viazaným centrálnym iónom železa, ktorý v katalytickom komplexe s membránovým 5-lipoxygenázou aktivujúcim proteínom tvorí 5-hydroperoxyeikozatetraénovú kyselinu. V ďalších krokoch sa zapájajú leukotrién A_4 -hydroláza alebo leukotrién C_4 -syntáza. Vďaka pokroku z posledných rokov v oblasti röntgenovej štruktúrnej analýzy a odhalenia 3D štruktúry biokatalyzátorov, najmä ich aktívnych centier, sa vývoj nových liečiv výrazne urýchlil. Tento zložitý enzymaticky kontrolovaný proces ponúka viacero možností modulácie a predstavuje tak nové prístupy nielen k liečbe typických zápalových ochorení, ale aj v terapii aterosklerózy a nádorových ochorení.

Kľúčové slová: leukotriény • 5-lipoxygenáza • modulácia • leukotriénová cesta

Summary

Leukotrienes (LT), namely cysteinyl LT and LTB_4 , are potent lipid mediators taking part in the signal pathways of many inflammatory processes. The arachidonic acid transformation into leukotrienes can be signed as the leukotriene pathway. The key enzyme is 5-lipoxygenase, a dioxygenase containing a nonheme-bound ferric central ion, which in the catalytic complex with 5-lipoxygenase activating protein forms 5-hydroperoxyeicosatetraenoic acid. In the next steps this process involves leukotriene A_4 -hydrolase or leukotriene C_4 -synthase. According to the progress in recent years in the area of X-ray structural analysis and revealed 3D structure of these biocatalysts, especially their active sites, the development of new

drugs markedly accelerated. This complicated enzymatically controlled process offers several possibilities of modulation and presents new approaches to the treatment of typical inflammatory diseases as well as in the therapy of atherosclerosis and cancer.

Keywords: leukotrienes • 5-lipoxygenase • modulation • leukotriene pathway

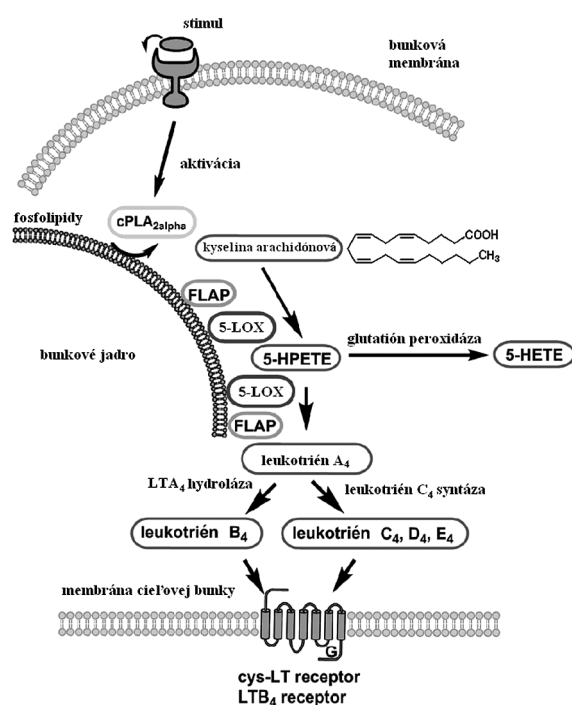
Leukotriény

Leukotriény sú bioaktívne lipidové mediátory tvorené v metabolickej ceste 5-lipoxygenázy (5-LOX). Sú tvorené a uvoľňované z aktivovaných leukocytov kaskádou enzymaticky kontrolovaných reakcií, ich účinky sú sprostredkované špecifickými GPCR receptormi. Zmes cysteinyl-leukotriénov (LTC_4 , LTD_4 a LTE_4) bola po štyri desaťročia označovaná ako SRS-A – pomaly pôsobiace mediátory anafylaxie.

Kyselina arachidónová (AA), ktorá je v bunke este-rovo viazaná na membránové fosfolipidy, je po uvoľnení prostredníctvom $cPLA_2$ metabolizovaná 5-LOX. Táto solubilná dioxygenáza aduje molekulárny kyslík na nenasýtenú väzbu v pozícii C5 za tvorby 5-HpETE, ktorá je ďalej premieňaná 5-LOX na nestabilný epoxid LTA_4 (obr. 1)¹⁾. Osud LTA_4 závisí na type bunky a prítomnosti metabolizujúcich enzýmov: LTA_4 -hydrolázy za tvorby LTB_4 , alebo LTC_4 -syntázy za tvorby LTC_4 . Uvoľnením LTC_4 do extracelulárneho prostredia a pôsobením γ -glutamyl transpeptidázy vedie k vzniku LTD_4 , ktorý je metabolizovaný dipeptidázou na LTE_4 . Alternatívne môže byť *de novo* syntetizovaný LTA_4 transportovaný do susedných buniek, ktoré ho nie sú schopné produkovať samostatne, ale exprimujú LTA_4 -hydrolázu alebo LTC_4 -syntázu, resp. MAPEG.

Štúdie zaoberajúce sa LTA_4 v rámci ľudských neutrofilov preukázali, že viac než 50% vytvoreného leukotriénu sa uvoľňuje a zúčastňuje sa medzibunkového metabolizmu^{2, 3)}. Napríklad erytrocyty, ktoré exprimujú LTA_4 -hydrolázu ale nie 5-LOX, preukázali schopnosť premeny LTA_4 na LTB_4 ⁴⁾. Endotelové bunky a krvné doštičky, ktoré exprimujú LTC_4 -syntázu, ale nemajú 5-LOX, dokážu spracovať LTA_4 vytvorené neutrofilmi na LTC_4 ⁵⁾. Podobne bola preukázaná transcelulárna biosyntéza aj pre alveolárne makrofágy⁶⁾.

PharmDr. Peter Hoffman (✉) • L. Bezáková
Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra
bunkovej a molekulárnej biológie liečiv
Kalinčiaková 8, 832 32 Bratislava, Slovenská republika
e-mail: hoffman@fpharm.uniba.sk



Obr. 1. Schéma biosyntézy leukotriénov

Aktiváciou bunky exprimujúcej 5-LOX dochádza v prvom kroku k uvoľneniu kyseliny arachidónovej prostredníctvom cPLA₂. 5-LOX v spolupráci s FLAP oxygenuje AA za vzniku hydroperoxidu (5-HpETE), ktorý môže byť redukovaný glutatiómovou peroxidázou na 5-HETE alebo ďalším pôsobením 5-LOX/FLAP vzniká leukotriénový epoxid LTA₄. Ten podľahne hydrolytickému štiepeniu katalyzovanému LTA₄-hydrolázou za vzniku LTB₄. Alternatívne LTA₄ konjuguje s glutatiómom za vzniku cysteinyl leukotriénov (LTC₄, LTD₄, LTE₄), reakcia je katalyzovaná leukotrién C₄ syntázou. Vznikajúce leukotriény pôsobia na cieľové bunky prostredníctvom príslušných receptorov: LTB₄ cez LTB₄ receptory, cysteinyl leukotriény cez cys-LT receptory (upravené podľa ¹¹).

Receptory leukotriénov

Cysteinyl-leukotriény (cys-LT), tiež označované ako peptidyl-leukotriény (p-LT), LTC₄, LTD₄ a LTE₄ sú prozápalové mediátory pôsobiace prostredníctvom GPCR receptorov – Cys-LT₁ a Cys-LT₂ (pôvodne označovaný ako LTC₄ receptor).

Väčšina efektov cys-LT v patofyziológii astmy je sprostredkovaných Cys-LT₁ receptorom, ktorý sa vyskytuje v ľudských prieduškách, periférnych cirkulujúcich leukocytoch, v bunkách hladkých svalov pľúc, intersticiálnych makrofágoch a slezine. Cys-LT₂ je exprimovaný hlavne v srdci, dreni nadobličiek, pľúcach a periférnych cirkulujúcich leukocytoch⁷. Cys-LT₂ zohráva dôležitú úlohu v kardiovaskulárnom systéme, je hlavným receptorom v predsieniach a komorách a aj v koronárnych artériách, kde Cys-LT₁ receptor je minimálne exprimovaný⁸.

Aktivita leukotriénu B₄ je sprostredkovaná dvoma podtriedami BLT receptorov. BLT₁ receptor je špecifický a vysoko afinitný pre LTB₄, nachádza sa prednostne na povrchu polymorfonukleárných leukocytov⁹ a niektorých ďalších tkanivách¹⁰, ale tiež v aterosklerotických plátoch krčnej tepny, endotelových bunkách a hladkých svalov ciev¹¹. LTB₄ prostredníctvom tohto vysoko afinitného receptora sprostredkúva chemotaxiu, spája sa s at-

rogenézou, bronchiálnou astmou, glomerulonefritídou, artritídou a chronickými zápalovými črevnými ochoreniami¹².

BLT₂ je ubikvitárny, nízko-afinitný receptor (vykazuje 20-násobne nižšiu afinitu než BLT₁) s výskytom v pečeni, črevách, slezine, obličkách, endotelových bunkách aj neutrofiloch¹³. Fyziologické a patologické úlohy BLT₂ sú stále takmer neznáme.

Enzymy zapojené v biosyntéze leukotriénov

5-lipoxygenáza

Najvýznamnejšou a najviac preskúmanou polohovo špecifickou izoformou lipoxygenáz je 5-LOX. Premieňa AA na 5-hydroperoxyeikozatetraénovú kyselinu (5-HpETE), ktorá je redukovaná na príslušný hydroxid (HETE) alebo na leukotriény. Enzymatická aktivita je vysoko regulovaná prostredníctvom viacerých procesov signalizácie (najmä fosforylácie) a membránového 5-LOX aktivujúceho proteínu (FLAP). V súčasnosti používané modulatory 5-LOX metabolizujúcej dráhy sa využívajú v liečbe astmy a alergickej rinitídy, no potenciálne nové modulatory pôsobiace na úrovni tvorby leukotriénov, prípadne ich účinku (receptorov), ponúkajú výrazne pestrejšie možnosti využitia: v kardiovaskulárnych ochoreniach (stavy po infarkte myokardu, ochorenia koronárnych artérií, ateroskleróza), pri liečbe reumatoidnej artritídy a osteoartritídy, ale aj niektorých druhov rakovinového bujnenia.

5-lipoxygenázu aktivujúci proteín (FLAP)

Objav tohto 18 kDa integrálneho membránového proteínu sa spája s koncom osemdesiatych rokov a syntézou indolovej zlúčeniny označenej ako MK-886, ktorá inhibovala syntézu leukotriénov in vitro aj in vivo bez ovplyvnenia 5-LOX, fosfolipáz alebo iných neselektívnych mechanizmov v produkcii leukotriénov¹⁴. Keďže tento proteín bol nevyhnutný pre bunkovú aktivitu 5-LOX, bol nazvaný proteín aktivujúci 5-lipoxygenázu (five-lipoxygenase activating protein; FLAP).

FLAP je nevyhnutným pre premenu endogénneho substrátu (AA) prostredníctvom 5-LOX. Stimuluje tiež utilizáciu exogénne pridanej kyseliny arachidónovej a výrazne (približne 190-násobne) stimuluje aj spracovanie ďalšieho exogénneho substrátu – 12(S)-HETE. Pridaním exogénnej kyseliny arachidónovej dochádza k stimulácii 5-LOX aj v neprítomnosti FLAP, čo znižuje účinnosť blokátorov FLAP¹⁵.

LTA₄-hydroláza

LTA₄-hydroláza (LTA₄-H) je 69 kDa zinok obsahujúci enzým (EC 3.3.2.6) lokalizovaný v cytozole a tvorený 610 AK. Bol objavený prostredníctvom jeho epoxid-hydrolázovej aktivity, súčasne je členom M1 rodiny zinok obsahujúcich aminopeptidáz. Zabezpečuje premenu leukotriénu A₄ na chemotakticky aktívny LTB₄.

Hoci je najvyššia expresia enzýmu v neutrofiloch, LTA₄-H je ubikvitárne distribuovaná v cicavčích tkanivách, dokonca aj v bunkách, ktoré nevykazujú 5-LOX aktivitu. Príkladom môžu byť erytrocyty, kde syntéza LTB₄ závisí na transporte LTA₄ z iných buniek exprimujúcich 5-LOX (najčastejšie polymorfonukleárne leukocy-

ty)¹⁶). Gén kódujúci LTA₄-H má viac než 35 kbp s 19 exónmi a je lokalizovaný na chromozóme 12q22 (LTA4H). V neutrofiloch je mRNA enzýmu up-regulovaná prostredníctvom IL-4 a IL-13¹⁷).

LTC₄-syntáza

LTC₄-syntáza (LTC₄-S) je 18 kDa integrálny membránový proteín, člen veľkej rodiny MAPEG enzýmov, tvorený 150 AK. Enzým pracuje ako mikrozomálna glutatión-S-transferáza, ktorá katalyzuje konjugáciu epoxidového leukotriénu A₄ s glutatiónom za tvorby LTC₄.

LTC₄-S je exprimovaná najmä v mastocytoch a makrofágoch, vysoké množstvá boli preukázané aj v eozinofiloch¹⁸). Aj v prípade tvorby LTC₄ je pomerne výrazná transcelulárna tvorba v bunkách neexprimujúcich 5-LOX: endotelové bunky, bunky hladkých svalov ciev, krvné doštičky²).

Inhibítory a antagonisty LOX dráhy

Pokroky v objasnení vzniku leukotriénov a molekulárnej fyziológie ich účinku urýchlili vývoj v oblasti liečby zápalových ochorení typu astmy a ďalších kardiovaskulárnych a iných ochorení. Oplyvnenie leukotriénovej signalizačnej dráhy sa zameriava na viaceré oblasti: inhibíciu aktivity 5-LOX (prípadne duálnou inhibíciou COX/5-LOX), blokovaním aktivity FLAP, LTA₄-H alebo LTC₄-S a antagonizmom Cys-LT receptorov.

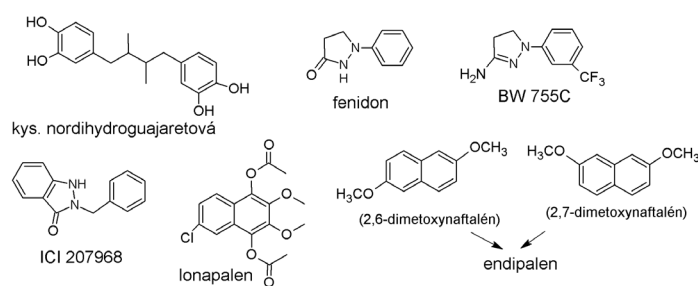
Redoxné inhibítory 5-LOX

Lipoxigenázy a príbuzné enzýmy v metabolizme AA sú náchylné k inhibícii zlúčeninami s nízkym redoxným potenciálom (obr. 2). Takéto redoxné inhibítory sú slabšie selektívne pre LOX podobne ako pre COX. Výsledkom interakcií s inými biologickými redoxnými systémami a ďalšími oxygenázami je aj vznik toxického methemoglobínu. Navyše, napriek značnej aktivite *in vitro* sú často iba slabými alebo neúčinnými inhibítormi *in vivo* pri perorálnom podávaní¹⁹), prípadne vykazujú toxické účinky vrátane genotoxicity. Vzhľadom na lipofilnú podstatu substrátu sú aj tieto inhibítory vo všeobecnosti malými lipofilnými molekulami typu fenolov (nordihydroguajaretová kyselina), chinónov, dihydrochinónov, kumarínov (eskuletín) alebo flavonoidov (cirsilol).

Okrem prírodných zlúčenín zaujímavé inhibičné účinky dosiahli deriváty pyrazolínu fenidón a BW 755C (časť Duálne inhibítory COX/5-LOX) a indazolínový derivát ICI 207968. Posledne menovaná zlúčenina vykazovala vysokú selektivitu pre 5-LOX s výraznými *in vivo* účinkami²⁰).

Redoxné inhibítory práve z uvedených dôvodov nedosiahli uvedenie do terapeutického praxe a boli sklamaním. Skupina redoxných inhibítory nebola ďalej rozvíjaná s výnimkou lonapalenu a endipalenu, ktoré vykazujú efektívnosť v liečbe psoriázy a nachádzajú sa v tretej fáze klinických štúdií²¹).

Nádej sa vkladajú najmä do prírodných aromatických zlúčenín, najmä flavonoidov a ich

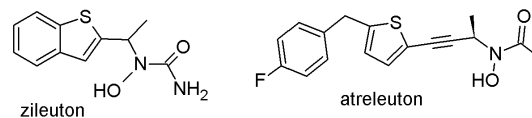


Obr. 2. Štruktúry redoxných inhibítory

derivátov, ktorých pôvod a redoxná schopnosť predurčuje ich terapeutické využitie. Navyše, mnohým flavonoidom sa pripisujú významné antioxidačné vlastnosti, pričom ich dlhodobé užívanie je historicky overené a bezpečné.

Chelátory železa

Najväčšie úspechy pri hľadaní netoxických neredoxných inhibítory 5-LOX (obr. 3) predstavujú hydroxámové kyseliny a ich deriváty (Zileuton; ABT-761). Tieto zlúčeniny boli syntetizované s predpokladom chelátovať



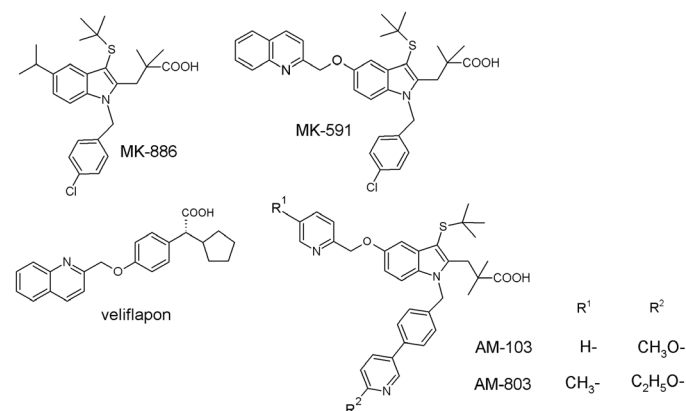
Obr. 3. Chelátory železa

centrálny ión železa. Zileuton preukázal účinnosť v liečbe chronickej astmy najmä bronchodilatačným, protizápalovým a steroidy-šetriacim účinkom²²). Náročnosť dávkovania (4-krát denne) a hepatotoxický účinok viedol k jeho stiahnutiu z terapeutického praxe.

Druhú generáciu predstavuje atreleuton (s eliminačným polčasom 15-18 h), v súčasnosti v klinickom skúšaní pre využitie v liečbe aterosklerózy²³).

FLAP inhibítory

Mechанизmus účinku FLAP-u bol objavený až na základe testovania inhibítory biosyntézy LT: indolového derivátu indometacínu (MK-886) a chinolín-indolo-



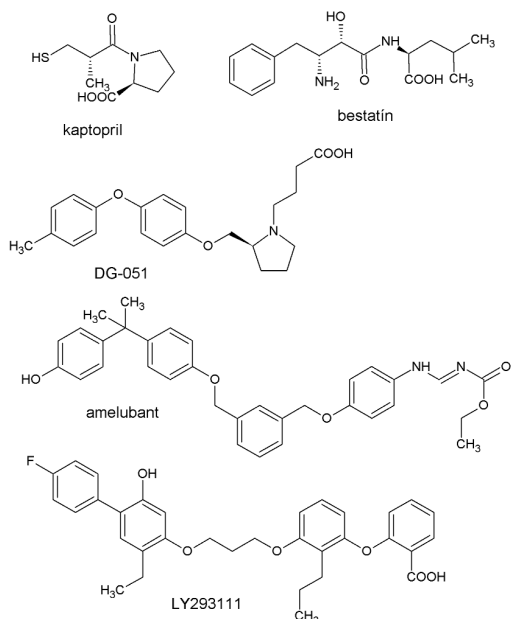
Obr. 4. FLAP inhibítory

vého derivátu MK-591¹⁴). V súčasnosti sa využívajú vo výskume FLAP-u nakoľko nedosahovali účinnosť porovnateľnú s Cys-LT inhibítormi²⁴).

Ďalší FLAP antagonist, veliflapon (chinolínový derivát), je v súčasnosti testovaný v súvislosti s kardiovaskulárnymi ochoreniami²⁵). Na základe objasnenia 3D štruktúry FLAP-u sa vytvorili možnosti pre cieľnú syntézu špecifických inhibítorov, čo vyústilo do objavu AM-103²⁶) a AM-803²⁴), ktoré sa v súčasnosti nachádzajú v druhej fáze klinických štúdií pre liečbu astmy (obr. 4).

Inhibítory LTA_4 -hydrolázy

Inhibítory LTA_4 -H sú buď analógmi LTA_4 , alebo inhibítormi dipeptidázovej aktivity enzýmu. Interakciu s LTA_4 -H preukázali kaptopril (ACE inhibítor), bestatín (inhibítor aminopeptidáz) a niektoré chelátory zinku (centrálny ión LTA_4 -H)²⁷). Fázu 2 klinického výskumu zatiaľ dosiahol iba DG-051 (obr. 5) indikovaný u pacientov s anamnézou infarktu myokardu alebo ochoreniami koronárnych artérií (najmä aterosklerózu)²⁸). DG-051 bol syntetizovaný na základe štruktúrnej analýzy LTA_4 -H.

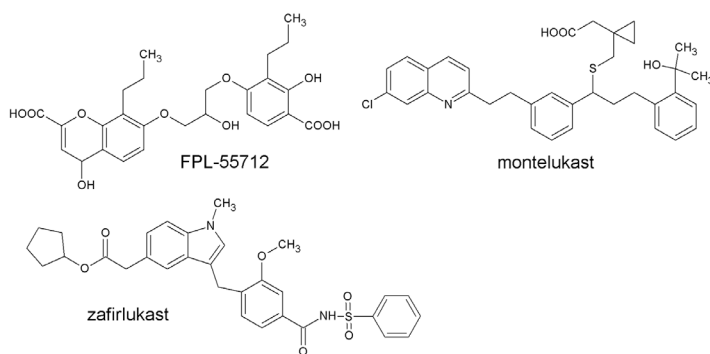


Obr. 5. Zástupcovia inhibítorov LTA_4 -hydrolázy a antagonistov BLT receptorov

Antagonisty BLT receptorov

K liečbe zápalových ochorení sa v súčasnosti pristupuje aj ďalším mechanizmom, inhibíciou infiltrácie leukocytov do tkanív (napr. kĺbov, kože) sprostredkovanou leukotriénom B_4 a jeho receptormi (BLT₁ a BLT₂). Výsledky z posledných rokov priniesli niekoľko zaujímavých zlúčenín.

Amelubant (obr. 5) je prodrug forma pre orálne dávkovanie so zanedbateľnou väzbou na BLT receptory, po metabolizovaní esterázami však poskytuje dva aktívne metabolity s antagonizmom voči obom BLT receptorom²⁹). Amelubant inhibuje expresiu Mac-1 (CD11b/CD18) v neutrofiloch, u pacientov s reumatoidnou artri-



Obr. 6. Antagonisty Cys-LT receptorov

tidou však nepreukázal výraznú efektívitu³⁰). Potenciál tohto liečiva je stále v liečbe COPD a cystickej fibrózy³¹).

Najväčším kandidátom nového liečiva je LY293111, v súčasnosti v druhej fáze klinických štúdií, ktoré vykazujú antagonizmus voči BLT receptorom a agonizmus pre PPAR- γ . V kombinácii s gemcitabínom vykazujú zaujímavé protirakovinové účinky pri adenokarcinóme pankreasu³²).

Antagonisty Cys-LT receptorov

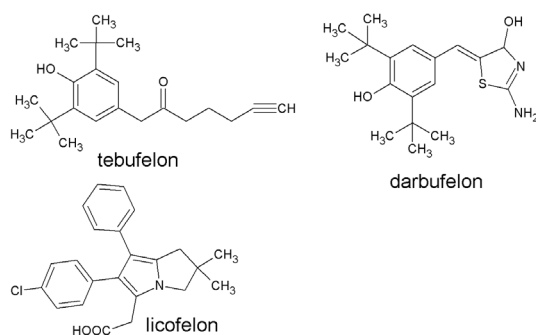
Šesť rokov pred definovaním štruktúry leukotriénov bol objavený prvý Cys-LT antagonist, derivát acetofenónu FPL55712 (obr. 6), pôvodne vyvinutý ako antagonist SRS-A³³). Napriek tomu, že nevykazoval vysokú špecificitu, stal sa základom výskumu vedúceho k súčasným vysoko selektívnym a účinným liečivám.

Zatiaľ najvýznamnejšími liečivami ovplyvňujúcimi leukotriénovú cestu, pôsobiace prostredníctvom selektívnej inhibície cys-LT₁ receptora, sú montelukast (Singulair®, Merck & Co, NJ, USA), zafirlukast (Accolate®, AstraZeneca, Londýn, UK) a pranlukast (Onon®, Ono Pharmaceutical, Osaka, Japonsko), používané v liečbe bronchiálnej astmy a alergickej rinitídy. Výhodou týchto liečiv oproti bežnej liečbe astmy je zníženie potreby záchranných antiastmatík typu β_2 -agonistov a kortikosteroidov. Práve nežiaduce účinky inhalačných kortikosteroidov, najmä u detí, viedli k zavedeniu montelukastu do terapeutického praxe pre deti od 2. roku života.

Duálne inhibítory COX/5-LOX

Liečivá schopné inhibovať tak cyklooxygenázu (COX-1 a COX-2), ako aj 5-LOX boli navrhnuté za účelom zachovať aktivitu NSAIDs a súčasne vynechať ich hlavné nežiaduce účinky: redukciu tvorby gastroprotektívnych prostaglandínov a súčasné zvýšenie hladín prozápalových leukotriénov, ktoré prispievajú k patogenéze NSAID-indukovaného poškodenia mukózy žalúdočnej sliznice³⁴). Posun bol zaznamenaný aj na základe sklamaní zo selektívnych COX-2 inhibítorov (coxibov), ktorým sa po uvedení do terapeutického praxe preukázala zvýšená incidencia kardiovaskulárných komplikácií: infarktu myokardu a náhlej cievnej mozgovej príhody³⁵).

Na základe 3D štruktúry enzýmu je v rámci súčasných poznatkov modelovania pomerne jednoduché navrhnuť liečivo selektívne sa viažuce na enzým. Navrhnuť liečivo,



Obr. 7. Duálne inhibítory COX/5-LOX

ktoré by inhibovalo súčasne dva odlišné enzýmy bez výraznej štruktúrálnej podobnosti, je oveľa ťažšia úloha.

Tebufelon a darbufelon sú reprezentantmi skupiny di-*tert*-butylfenolov (obr. 7). Fenolová funkčná skupina im dodáva antioxidačné vlastnosti zodpovedné za protizápalové schopnosti a nízky ulcerogénny potenciál³⁴. Darbufelon sa nachádza v tretej fáze klinického skúšania ako nové perorálne aktívne liečivo pre reumatoidnú artritídu³⁶.

K duálnym COX/LOX inhibítormo zaradujeme aj pyrazolínové deriváty fenidon a BW 755C pôsobiace ako redoxné inhibítory. Tieto malé lipofilné aromatické zlúčeniny sa používajú v rastlinných modeloch pri odhaľovaní významu lipoxygenáz v raste a obranných systémoch rastlín v odpovedi na environmentálny stres (pri napadnutí patogénmi)³⁷.

V tretej fáze klinických štúdií pre liečbu osteoartritídy sa nachádza pyrolizínový derivát licofelon³⁸. Na viacerých zvieracích modeloch preukázal protizápalový, analgetický a protiastmatický účinok bez poškodenia mukózy GIT³⁹. V porovnaní s naproxénom (NSAID) vykazuje rovnakú efektívnosť redukcie symptómov osteoartritídy (najmä bolesti), výrazne však redukuje zmenšovanie objemu chrupky v kĺboch.

Záver

Hoci progres v tejto oblasti postúpil o veľký krok vpred, všetky signalizačné cesty leukotriénovej cesty tak vo fyziologických, ako aj patologických procesoch dosiaľ neboli objavené. Súčasne treba pripomenúť, že k derivátom kyseliny arachidónovej patria aj mnohé významné eikozanoidy (prostaglandíny, tromboxány a iné), preto aj ovplyvnenie leukotriénovej cesty vyvolá zmeny v ich tvorbe a aktivite ďalších enzýmov. Nové možnosti sa otvárajú aj v modulácii ďalších polohovo špecifických lipoxygenáz, ktorých produkty boli preukázané aj v mnohých fyziologických procesoch.

Zoznam skratiek

AA	– kyselina arachidónová
BLT	– receptor LTB ₄
COPD	– chronická obštruktívna pľúcna choroba
COX	– cyklooxygenáza
cPLA ₂	– cytozolová fosfolipáza A ₂
FLAP	– proteín aktivujúci 5-lipoxygenázu
GPCR	– s G-proteínom spriahnuté receptory
HETE	– hydroxyeikozatetraénová kyselina
HpETE	– hydroperoxyeikozatetraénová kyselina

IL	– interleukín
LOX	– lipoxygenáza
LT	– leukotrién
MAPEG	– s membránou asociované proteíny v metabolizme eikozanoidov a glutatiónu
mRNA	– mediátorová ribonukleová kyselina
NSAID	– nesteroidné antiflogistiká
PPAR	– receptory aktivujúce proliferáciu peroxizómov

Konflikt záujmov: žiadny.

Literatúra

- Steinhilber, D., Fischer, A. S., Metzner, J., Steinbrink, S. D., Roos, J., Ruthardt, M., Maier, T. J.: 5-lipoxigenase: underestimated role of a pro-inflammatory enzyme in tumorigenesis. *Front Pharmacol.* 2010; 1, doi: 10.3389/fphar.2010.00143
- Folco G., Murphy R. C.: Eicosanoid transcellular biosynthesis: from cell-cell interactions to in vivo tissue responses. *Pharmacol Rev* 2006; 58, 1–14.
- Sala A., Bolla M., Zarini S., Muller-Peddinghaus R., Folco G.: Release of leukotriene A₄ versus leukotriene B₄ from human polymorphonuclear leukocytes. *J Biol Chem* 1996; 271, 17944–17948.
- McGee J. E., Fitzpatrick, F. A.: Erythrocyte-neutrophil interactions: formation of leukotriene B₄ by transcellular biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci*, 1986; 83, 1349–1353.
- Maclouf J. A., Murphy R. C.: Transcellular metabolism of neutrophil-derived leukotriene A₄ by human platelets: a potential cellular source of leukotriene C₄. *J Biol Chem*, 1988; 263, 174–181.
- Grimminger F., Sibelius U., Seeger W.: Amplification of LTB₄ generation in AM–PMN cocultures: transcellular 5-lipoxigenase metabolism. *Am J Physiol*, 1991; 261, L195–L203.
- Montuschi P., Sala A., Dahlén S. E., Folco G.: Pharmacological modulation of the leukotriene pathway in allergic airway disease. *Drug Discov Today*, 2007; 12, 404–412.
- Kamohara M., Takasaki J., Matsumoto M., Matsumoto S. I., Saito T., Soga T., Matsushime H., Furuichi K.: Functional characterization of cysteinyl leukotriene CysLT₂ receptor on human coronary artery smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001; 287, 1088–1092.
- Toda A., Yokomizo T., Shimizu T.: Leukotriene B₄ receptors. *Prostag Oth Lipid M*, 2002; 68–69, 575–585.
- Yokomizo T., Kato K., Hagiya H., Izumi T., Shimizu T.: A pilot study examining the role of zileuton in atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 1997; 83, 620–624.
- Bäck M., Bu D. X., Bränström R., Sheikine Y., Yan Z. Q., Hansson G. K.: Leukotriene B₄ signaling through NF- κ B-dependent BLT1 receptors on vascular smooth muscle cells in atherosclerosis and intimal hyperplasia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005; 102, 17501–17506.
- Werz O., Steinhilber D.: Therapeutic options for 5-lipoxigenase inhibitors. *Pharmacol Therapeut*, 2006; 112, 701–718.
- Khanapure S. P., Garvey D. S., Janero D. R., Letts L. G.: Eicosanoids in inflammation: biosynthesis, pharmacology, and therapeutic frontiers. *Curr Top Med Chem*, 2007; 7, 311–340.
- Gillard J., Ford-Hutchinson A. W., Chan C., Charleson S., Denis D., Foster A., Fortin R., Leger S., McFarlane C. S., Morton H. et al.: L-663,536 (MK-886) (3-[1-(4-chlorobenzyl)-3-t-butyl-thio-5-isopropylindol-2-yl]-2,2-dimethylpropanoic acid), a novel, orally active leukotriene biosynthesis inhibitor. *Can J Physiol Pharmacol*, 1989; 67, 456–464.
- Radmark O., Samuelsson B.: Regulation of the activity of 5-lipoxigenase, a key enzyme in leukotriene biosynthesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010; 396, 105–110.
- Bäck, M.: Inhibitors of the 5-lipoxigenase pathway in atherosclerosis. *Curr Pharm Design*, 2009; 15, 3116–3132.
- Zaitu M., Hamasaki Y., Matsuo M., Kukita A., Tsuji K., Miyazaki M., Hayasaki R., Muro E., Yamamoto S.,

- Kobayashi I., Ichimaru T., Kohashi O., Miyazaki S.:** New induction of leukotriene A₄ hydrolase by interleukin-4 and interleukin-13 in human polymorphonuclear leukocytes. *Blood*, 2000; 96, 601–609.
18. **Sampson A. P.:** Leukotriene C4 synthase: the engine of aspirin intolerance? *Clin Exp Allergy*, 2011; 41, 1050–1053.
19. **Young R. N.:** Inhibitors of 5-lipoxygenase: a therapeutic potential yet to be fully realized? *Eur J Med Chem*, 1999; 34, 671–685.
20. **Bruneau P., Delvare C., Edwards M. P., McMillan R. M.:** Indazolines, a new series of redox-active 5-lipoxygenase inhibitors with built-in selectivity and oral activity. *J Med Chem*, 1991; 34, 1028–1036.
21. **Black A. K., Camp R. D. R., Derm F. F., Mallet A. I., Cunningham F. M., Hofbauer M., Greaves M. W.:** Pharmacologic and clinical effects of lonapalene (RS-43179), a 5-lipoxygenase inhibitor, in psoriasis. *J Invest Dermatol*, 1990; 95, 50–54.
22. **Liu M. C., Dube L. M., Lancaster J.:** Acute and chronic effects of a 5-lipoxygenase inhibitor in asthma: a 6-month randomized multicenter trial. *J Allergy Clin Immunol*, 1996; 98, 859–871.
23. **Tardif J. C., L'Allier P. L., Ibrahim R., Gregoire J. C., Nozza A., Cossette M., Kouz S., Lavoie M. A., Paquin J., Brotz T. M., Taub R., Pressacco J.:** Treatment with 5-lipoxygenase inhibitor VIA-2291 (Atreleuton) in patients with recent acute coronary syndrome. *Circulation*, 2010; 3, 298–307.
24. **Sampson A. P.:** FLAP inhibitors for treatment of inflammatory diseases. *Curr Opin Investig Drugs*, 2009; 10, 1163–1172.
25. **Hakonarson H., Thorvaldsson S., Helgadóttir A., Gudbjartsson D., Zink F., Andresdóttir M. et al.:** Effects of a 5-lipoxygenase-activating protein inhibitor on biomarkers associated with risk of myocardial infarction: a randomized trial. *JAMA*, 2005; 293, 2245–2256.
26. **Bain G., King C. D., Rewolinski M., Schaab K., Santini A. M., Shapiro D., Moran M., Rooij S. W., Roffel A. F., Schulengahut P., Milne G. L. et al.:** Pharmacodynamics and pharmacokinetics of AM103, a novel inhibitor of 5-lipoxygenase-activating protein (FLAP). *Clin Pharmacol Ther*, 2010; 87, 437–444.
27. **Penning T. D.:** Inhibitors of leukotriene A₄ (LTA₄) hydrolase as potential anti-inflammatory agents. *Curr Pharm Design*, 2001; 7, 163–179.
28. **Sandanayaka V., Mamat B., Bhagat N., Bedell L., Halldorsdóttir G., Sigthorsdóttir H., Andrésón P., Kiselyov A., Gurney M., Singh J.:** Discovery of novel leukotriene A₄ hydrolase inhibitors based on piperidine and piperazine scaffolds. *Bioorg Med Chem Lett*, 20, 2010; 20, 2851–2854.
29. **Diaz-Gonzalez F., Alten R. H. E., Bensen W. G., Bown J. P., Sibley J. T., Dougados M., Bombardieri S., Durez P., Ortiz P., de-Miquel G., Staab A. et al.:** Clinical trial of a leukotriene B₄ receptor antagonist, BIIL 284, in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2007; 66, 628–632.
30. **Alten R., Gromnica-Ihle E., Pohl C., Emmerich J., Steffgen J., Roscher R., Sigmund R., Schmolke B., Steinmann G.:** Inhibition of leukotriene B₄-induced CD11B/CD18 (Mac-1) expression by BIIL 284, a new long acting LTB₄ receptor antagonist, in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2004; 63, 170–176.
31. **Hicks A., Monkars S. P., Hoffman A. F., Goodnow R. Jr.:** Leukotriene B₄ receptor antagonists as therapeutics for inflammatory disease: preclinical and clinical developments. *Expert Opin Investig Drugs*, 2007; 16, 1909–1920.
32. **Saif M. W., Oettle H., Vervenne W. L., Thomas J. P., Spitzer G., Visseren-Grul C., Enas N., Richards D. A.:** Randomized double-blind phase II trial comparing gemcitabine plus LY293111 versus gemcitabine plus placebo in advanced adenocarcinoma of the pancreas. *Cancer J*, 2009; 15, 339–343.
33. **Augstein J., Farmer J. B., Lee T. B., Sheard P., Tattersall M. L.:** Selective inhibitor of slow reacting substrate of anaphylaxis. *Nat New Biol*, 1973; 245, 215–217.
34. **Charlier C., Michaux C.:** Dual inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) as a new strategy to provide safer non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Eur J Med Chem*, 2003; 38, 645–659.
35. **Furberg C. D., Psaty B. M., Fitzgerald G. A.:** Parecoxib, valdecoxib, and cardiovascular risk. *Circulation*, 2005; 111, 249.
36. **Bannwarth B.:** Is licofelone, a dual inhibitor of cyclo-oxygenase and 5-lipoxygenase, a promising alternative in anti-inflammatory therapy? *Fund Clin Pharmacol*, 2004; 18, 125–130.
37. **Peng J., van Loon J. J. A., Zheng S., Dicke M.:** Herbivore-induced volatiles of cabbage (*Brassica oleracea*) prime defence in neighbouring intact plants. *Plant Biol*, 2011; 13, 276–284.
38. **Raynauld J. P., Martel-Pelletier J., Bias P., Laufer S., Haraoui B., Choquette D., Bealieu A. D., Abram F., Dorais M., Vignon E., Pelletier J. P.:** Protective effects of licofelone, a 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibitor, versus naproxen on cartilage loss in knee osteoarthritis: a first multicentre clinical trial using quantitative MRI. *Ann Rheum Dis*, 2009; 68, 938–947.
39. **Rotondo S., Dell'Elba G., Krauze-Brzósko K., Manarini S., Martelli N., Pecce R., Evangelista V., Cerletti C.:** Licofelone, a dual lipoxygenase-cyclooxygenase inhibitor, downregulates polymorphonuclear leukocyte and platelet function. *Eur J Pharmacol*, 2002; 453, 131–139.